

**PENENTUAN KONDISI OPTIMUM HIDROLISIS PATIOLEH *ASPERGILLUS NIGER* DALAM LIMBAH KULIT KENTANG**

Maria Tensiana Tima

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Flores  
Jln. Sam Ratulangi, Kel. Paupire, Kab. Ende  
[tencyello@gmail.com](mailto:tencyello@gmail.com)**ABSTRACT**

**Determination of optimum condition for starch hydrolysis *Aspergillus niger* in shell potato waste.** Shell Potato waste can be used as a raw material for making bioethanol because it contains carbohydrate ingredients, starch. The process of making bioethanol from starchy materials can be done through the hydrolysis process, then proceed with the fermentation process. The hydrolysis process is carried out to hydrolyze starch into glucose with the help of amylase enzyme produced from the *Aspergillus niger* bacterium. This research was carried out at the Chemistry Laboratory of FMIPA Malang State University. The purpose of this study was to determine the optimum conditions for hydrolysis of starch from potato skin which includes temperature, pH, time and amount of *Aspergillus niger* used. The glucose level produced from the hydrolysis process is determined using the Somogy-Nelson method. The results showed that the optimum conditions for starch hydrolysis to produce optimum glucose levels were using 1.25 grams of *Aspergillus niger* (equivalent to 50 mL of culture), at pH 5 and temperature of 30°C within 2 hours, with glucose produced as much as 0.0167 g of 100 g of shell potato waste flour.

---

**Key words:** *Hydrolysis, Potatoes Shell, Bioethanol.*

**PENDAHULUAN**

Bioetanol merupakan cairan biokimia pada proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat yang menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol dapat diproduksi menggunakan bahan baku yang mengandung gula, pati, atau selulosa (Purwadi dkk, 2009). Pembuatan bioetanol yang telah banyak dilakukan diantaranya oleh tim peneliti balaibesar teknologi pati(B2TP)menggunakan bahan berpati dari ubi kayu. Bahan berpati lain yang juga telah dipelajari menjadi bahan baku bioetanol antara lain ubi jalar (Ariyanto, 2009) dan pati ganyong (Sukandar, 2008). Pemanfaatan bahan berpati menjadi

bioetanol merupakan teknologi konversi yang cukup sederhana dan menjanjikan, sehingga dapat dikembangkan dari bahan berpati lainnya.

Limbah kulit kentang memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan baku bioetanol, karena diduga masih mengandung pati yang cukup besar. Lembaga Pati Internasional(2010) mengatakan, umbi kentang mempunyai kadar pati sebesar 80% dari berat keringnya. Limbah kulit kentang berasal dari pemanfaatan umbi kentang sebagai camilan seperti kripik kentang yang menjamur di sentra industri kripik kentang yang terdapat di kota Batu Malang. Setiap

bulan satu perusahaan kripik kentang mampu mengolah 2,1 ton kentang mentah menjadi kripik kentang (Sutanmuda, 2007). Hal ini berarti kulit kentang yang tidak dimanfaatkan juga cukup besar, sehingga pemanfaatan limbah kulit kentang sebagai bahan baku pembuatan bioetanol diharapkan dapat meningkatkan nilai guna dari limbah kulit kentang, karena selama ini limbah kulit kentang hanya dijadikan makanan ternak, bahkan dibuang begitu saja ke lingkungan.

Proses hidrolisis untuk menghasilkan glukosa dari bahan berpati dapat dilakukan dengan menggunakan katalis anorganik atau biokatalis (enzim) yang sesuai. Proses hidrolisis secara enzimatis lebih dipilih pada produksi bioetanol, karena hidrolisis secara enzimatis memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu (Norman dalam Virlandia, 2008) sehingga menghasilkan produk spesifik, sedangkan menggunakan katalis anorganik bersifat acak. Keuntungan hidrolisis secara enzimatis lainnya adalah menghasilkan limbah yang tidak berbahaya bagi lingkungan, sedangkan menggunakan katalis anorganik asam atau basa menghasilkan limbah yang sangat berbahaya, karena mengandung asam kuat ( $H_2SO_4$ ) atau basa kuat yang bersifat korosif (Prayadi dalam Ariyanto, 2009:11).

Hidrolisis pati secara enzimatis dilakukan dengan menggunakan enzim amilase atau mikroba yang mampu menghasilkan enzim amilase untuk memecahkan amilum (pati) menjadi glukosa (Purwadi, 2009). Proses hidrolisis yang dipilih pada penelitian adalah secara enzimatis menggunakan mikroba yang dapat menghasilkan enzim amilase. Amilase dapat diisolasi dari mikroba

seperti *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus sp* (Assegaf, 2009). *Aspergillus niger* dipilih karena memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi, serta mudah dikontrol, sehingga biaya produksinya relatif murah, dan dapat disediakan dalam waktu yang singkat (Ariyanto, 2009). Borris dalam Meliawati (1987) melaporkan bahwa *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim -amilase dan amiglukosidase dalam media yang mengandung pati. *Aspergillus niger* juga dilaporkan sebagai penghasil -glukosidase, baik ekstraseluler maupun intraseluler dan telah dipurifikasi serta dikarakterisasi (Meliawati dkk, 2006)

Proses hidrolisis secara enzimatis dipengaruhi oleh tingkat keasaman (pH), suhu, waktu, serta jumlah enzim yang digunakan. Perubahan pH lingkungan dapat menyebabkan perubahan kemampuan aktivitasnya. Peningkatan suhu dapat meningkatkan aktivitas enzim, tetapi bila suhu meningkat di atas suhu optimumnya seperti pada suhu lebih dari  $50^{\circ}C$ , enzim dapat mengalami denaturasi yang mengakibatkan enzim kehilangan aktivitasnya (Suwono, 2001). Enzim amilase dari *Aspergillus niger* memiliki suhu optimum  $30^{\circ}C$ , dan bekerja pada pH 4,8 (Komang 2004). Waktu dan jumlah biakan optimum pada proses hidrolisis sangat dipengaruhi oleh jumlah dan jenis substrat yang terlibat dalam proses hidrolisis tersebut. Penelitian Ariyanto (2009) menunjukkan bahwa waktu hidrolisis bubur ubi jalar dengan biakan *Aspergillus niger* yang terlalu lama (diatas dua jam) mengakibatkan penurunan kadar glukosa. Hal ini diduga karena pada waktu hidrolisis yang terlalu lama glukosa yang terbentuk digunakan oleh *Aspergillus niger* sebagai sumber energi, sehingga pada kondisi tersebut konsentrasi glukosa

menurun. Oleh karena itu, penentuan kondisi optimum hidrolisis amilum dari limbah kulit kentang menjadi glukosa dengan bantuan *Aspergillus niger* perlu dilakukan untuk menghasilkan jumlah glukosa yang optimum, khususnya mengenai pH hidrolisis, suhu, serta jumlah biakan *Aspergillus niger* yang digunakan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum hidrolisis pati dari kulit kentang yang meliputi suhu, pH, waktu dan jumlah *Aspergillus niger* yang digunakan.

## **METODE PENELITIAN**

### **Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di laboratorium FMIPA UM Universitas Negeri Malang

### **Alat dan Bahan yang Digunakan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : 1) peralatan gelas seperti gelas piala 50, 100, 1000, dan 2000 mL; Erlenmeyer 250 mL; gelas ukur 5, 10, dan 25 mL; gelas arloji, corong kaca, pengaduk, tabung reaksi, dan pipet tetes. 2) Alat penunjang lain seperti kertas saring ukuran 1 mikron, neraca analitik merk Sartorius, sumbat karet atau gabus, kapas, aluminium foil, autoklaf serta oven merk Memmert.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini dengan kualitas proanalisis (p.a) meliputi ; NaCl,  $\text{AlPO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , KCl,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ , yeast ekstrak, agar,  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ ,  $(\text{FeCl}_3)$ , HCl pekat, ammonium molibdat,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat,  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Bahan- bahan lain berupa aquades, NaOH 0,5 M, dan *Aspergillus niger*.

### **Tahapan Penelitian**

Tahapan penelitian untuk mencapai tujuan tersebut adalah: (1) pembuatan media pertumbuhan *Aspergillus niger*, (2) pembuatan kurva pertumbuhan *Aspergillus niger*, (3) preparasi kulit kentang, (4) Penentuan jumlah biakan *Aspergillus niger* optimum untuk proses hidrolisis limbah kulit kentang, (5) penentuan kondisi hidrolisis optimum (pH dan suhu), (6) penentuan kurva standar glukosa, (7) penentuan kadar glukosa dengan metode *Somogy-Nelson*,

### **Teknik Analisis Data**

Analisis data menggunakan teknik deskriptif naratif. Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan melalui pembuatan kurva hubungan antara waktu dengan jumlah sel *Aspergillus niger* berupa massa kering. Kurva yang dihasilkan menggambarkan fase-fase pertumbuhan yang dilalui *Aspergillus niger*.

Penentuan kondisi optimum sakarifikasi berdasarkan jumlah glukosa yang diperoleh. Penentuan jumlah glukosa dilakukan dengan rumus :

$$C \times V$$

Dimana :

C = konsentrasi glukosa

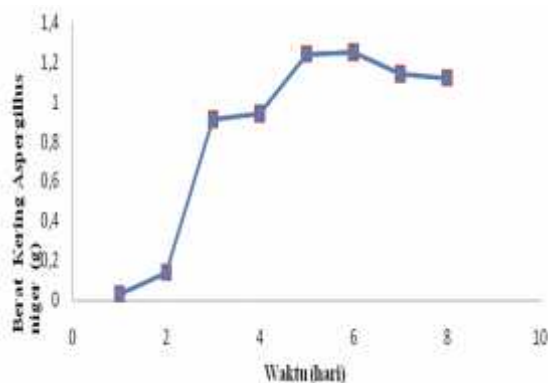
V = volume hasil sakarifikasi

Nilai C dapat diperoleh dengan mengekstrapolasi nilai absorbansi yang diperoleh kedalam kurva standart glukosa dengan persamaan  $Y (\text{absorbansi}) = aX + b$   $X$  = konsentrasi glukosa yang dihasilkan. Dari hasil konsentrasi yang diperoleh dapat ditentukan jumlah glukosa yang dihasilkan dengan rumus  $C \times V$ .

## **HASIL DAN PEMBAHAS**

## Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger*

Pada penelitian ini digunakan media dekstroza yang dimodifikasi dengan penambahan garam yaitu NaCl,  $\text{AlPO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , KCL,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa berat kering *Aspergillus niger* selama waktu pertumbuhan membentuk kurva pertumbuhan seperti pada gambar di bawah ini.



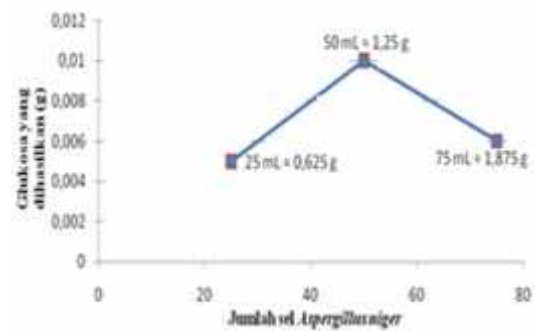
Gambar. 1 Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger*

Berdasarkan gambar kurva pertumbuhan yang diperoleh maka waktu pemanenan biakan *Aspergillus niger* yang akan digunakan untuk proses hidrolisis adalah hari ke-6.

## Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisis Limbah Kulit Kentang

### Penentuan Jumlah Biakan *Aspergillus niger* Optimum

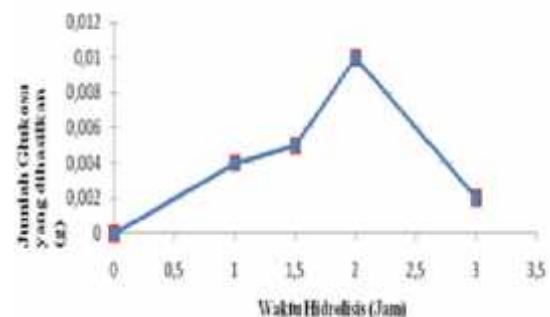
Penentuan jumlah biakan ini bertujuan untuk mengetahui berapa jumlah *Aspergillus niger* optimum yang digunakan untuk proses hidrolisis kulit kentang. Hasil percobaan menunjukkan bahwa ada pengaruh antara jumlah biakan yang digunakan dengan kadar glukosa yang dihasilkan setelah proses hidrolisis, seperti ditunjukkan pada gambar di bawah ini



Gambar 2 Jumlah Glukosa Hasil Hidrolisis pada Berbagai Variasi Jumlah *Aspergillus niger*

### Penentuan waktu optimum *Aspergillus niger* untuk hidrolisis kulit kentang

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berapa waktu optimum biakan *Aspergillus niger* yang digunakan untuk proses hidrolisis. Dari hasil percobaan terdapat pengaruh antara waktu yang digunakan dengan kadar glukosa yang dihasilkan setelah proses hidrolisis, seperti ditunjukkan pada gambar di bawah ini.

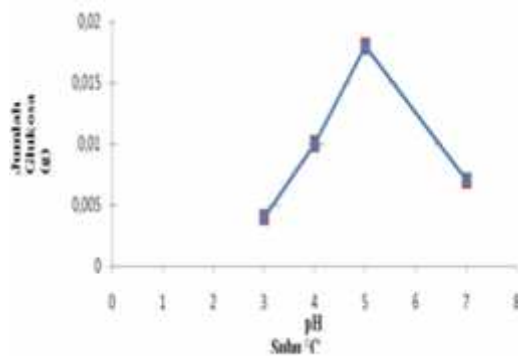


Gambar 3 kurva jumlah glukosa hasil hidrolisis pada berbagai variasi waktu hidrolisis optimum

Gambar di atas menunjukkan bahwa pada jam ke- 2 dengan menggunakan 1,25 g *Aspergillus niger* dapat menghasilkan glukosa yang optimum yaitu sebanyak 0,01 g dari 100 g tepung kulit kentang

### Penentuan pH optimum *Aspergillus niger* Untuk Hidrolisis Tepung Kulit Kentang

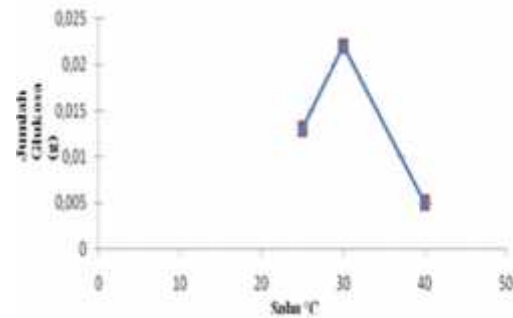
Proses hidrolisis ini dilakukan pada kisaran pH 3-7. Tujuannya untuk mengetahui pH optimum sakarifikasidalam menghidrolisis pati menjadi glukosa. Dalam proses ini digunakan rasio *Aspergillusniger* dengan tepung kulit kentang sebesar 1,25 g : 100 g. pH optimum dapat diketahui dengan jumlah glukosa terbanyak yang dihasilkan pada berbagai variasi pH. Gambar berikut menunjukkan bahwa pH optimum diperoleh pada pH 5.



Gambar 4 Jumlah glukosa hasil hidrolisis pada berbagai variasi pH

### Penentuan Suhu Optimum Untuk Hidrolisis Tepung Kulit Kentang

Pada proses ini dengan menggunakan rasio antara *Aspergillus niger* dengan tepung kulit kentang sebesar 1,25 g : 100 g dapat menghasilkan jumlah glukosa optimum sebanyak 0,022 g pada suhu 100°C. Gambar berikut menunjukkan hubungan antara suhu dengan kadar glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis.



Gambar 5 Jumlah glukosa hasil hidrolisis pada berbagai variasi suhu

### Pembuatan kurva pertumbuhan *Aspergillus niger*

Gambar 1 memperlihatkan adanya empat fase pertumbuhan yang dialami *Aspergillus niger*, yaitu (1) fase adaptasi, (2) fase eksponensial, (3) fase stasioner, dan (4) fase kematian. Peningkatan berat kering dari hari ke -0 (nol) hingga ke-1 hanya 0.032 gram, artinya penambahan jumlah sel cenderung lambat. Hal ini merupakan ciri khas dari fase adaptasi. Pada fase ini mulai terjadi metabolisme tetapi belum ada pertumbuhan populasi, biasanya sebagai akibat dari penyesuaian diri terhadap media baru.

Peningkatan nilai berat kering yang tajam terjadi dari hari ke-2 hingga ke-5 yang menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* berada pada fase logaritmik (fase log). Selama fase log, sel-sel mikroba menunjukkan ciri-ciri yang jelas, terutama mengenai bentuk, warna, kerapatan (density) dan pengelompokan koloni-koloni. Pada awal fase, hifa yang berwarna putih kekuningan mulai terbentuk dengan jelas dan terus membesar, serta menunjukkan kerapatan yang semakin tinggi hingga akhir fase. Warna hifa juga mulai mengalami perubahan dari putih tulang pada awal fase, hingga kehitaman pada akhir fase. Fase log ini juga merupakan waktu pada saat mikroba

paling giat aktivitasnya melakukan metabolisme (Tarigan,1998:132)

Fase stasioner ditunjukkan pada hari ke-5 dan hari ke-6 yang ditandai dengan peningkatan berat kering sel (jumlah sel) yang rendah bahkan boleh dikatakan konstan. Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Darkuni (2001) menjelaskan bahwa pada fase ini ukuran sel menjadi kecil karena sel tetap membelah walaupun ketersediaan nutrisi pada medium sudah sangat kurang. Pada fase ini seluruh permukaan hifa telah dipenuhi oleh sel-sel mikroba yang ditandai dengan warna konidiospora yang hitam pada seluruh permukaannya.

Setelah fase stasioner, maka sel akan mengalami fase kematian yang ditunjukkan melalui terjadinya penurunan jumlah sel sejak hari ke-7. Pada fase ini densitas hifa telah mengalami penurunan, konidiospora yang berwarna hitam mulai terlepas dan jatuh ke medium cair. Hal ini dikarenakan persediaan nutrient habis dikonsumsi, dan dimungkinkan sel *Aspergillus niger* mengalami autolisis untuk mempertahankan diri sehingga jumlah dan ukuran selnya mengecil.

Berdasarkan gambar kurva pertumbuhan yang diperoleh maka waktu pemanenan biakan *Aspergillus niger* yang akan digunakan untuk proses hidrolisis adalah hari ke-6, karena pada fase ini jumlah sel paling banyak dan enzim amilase yang dihasilkan juga produktivitasnya tinggi, serta pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan-bahan kimia (Fardiaz, 1988).

### **Penentuan Kondisi Optimum Hidrolisis Limbah Kulit Kentang**

Kondisi optimum yang digunakan untuk hidrolisis limbah kulit kentang antara lain jumlah biakan, waktu, pH dan suhu. Gambar 2 menunjukkan jumlah biakan *Aspergillus niger* dengan variasi berat kering 0,625 g sampai 1,25g mengalami kenaikan kadar glukosa yang semakin tinggi. *Aspergillus niger* dalam media yang mengandung amilum (kulit kentang) menghasilkan enzim amilase. Semakin banyak jumlah *Aspergillus niger* maka aktivitas amilase semakin tinggi. Jika aktivitas amilase meningkat dan jumlah substrat tetap maka jumlah kadar glukosa yang dihasilkan akan semakin tinggi.

Akan tetapi, pada jumlah sel *Aspergillus niger* diatas 1, 25g yaitu pada 1, 875 g menunjukkan hal yang berlawanan karena jumlah glukosa mengalami penurunan yang sangat tajam. Hal ini terjadi karena jumlah *Aspergillus niger* yang terlalu banyak. Pada kondisi tersebut diduga terjadi perebutan makanan antara *Aspergillus niger* yang jumlahnya sangat banyak, sehingga produksi amilase kurang optimal.

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hidrolisis tepung kulit kentang akan menghasilkan glukosa optimum dengan menggunakan rasio antara tepung kulit kentang dengan *Aspergillus niger* sebesar 1,25 g : 100 g dengan glukosa yang dihasilkan sebesar 0,01 g. Sementara itu, untuk waktu optimum memperlihatkan bahwa pada jam ke-0 belum terbentuk glukosa yang menunjukkan bahwa pada jam ke-0 belum terjadi proses hidrolisis. Tetapi dari jam ke -1 hingga jam ke 2 terjadi peningkatan jumlah glukosa yang dihasilkan. Jumlah glukosa optimum dihasilkan pada jam ke-2. Hal ini menunjukkan bahwa pada jam ke- 2 dengan menggunakan 1,25 g

*Aspergillus niger* dapat menghasilkan glukosa yang optimum yaitu sebanyak 0,01 g dari 100 g tepung kulit kentang. Pada waktu 2 jam sampai 3 jam, dengan jumlah biakan *Aspergillus* tetap seharusnya bentuk grafik yang dihasilkan parabola, karena secara teoritik tidak terjadi penambahan jumlah produk. Berdasarkan gambar 4.5 menunjukkan hal yang sebaliknya, waktu sakarifikasi diatas 2 jam mengakibatkan penurunan jumlah glukosa yang sangat tajam. Hal ini disebabkan karena proses hidrolisis pada percobaan ini menggunakan mikroba yang menghasilkan amilase (*Aspergillus niger*) bukan langsung menggunakan enzim amilase. Akibatnya metabolisme *Aspergillus niger* akan mempengaruhi waktu hidrolisis. Waktu hidrolisis yang terlalu lama akan mengakibatkan penguraian glukosa yang telah terbentuk, menjadi zat lain yang lebih sederhana sambil menghasilkan energi. Oleh sebab itu jumlah glukosa akan menurun karena digunakan *Aspergillus niger* sebagai sumber energi.

Penentuan pH optimum dalam proses hidrolisis ini dilakukan pada kisaran pH 3-7. Tujuannya untuk mengetahui pH optimum sakarifikasi dalam menghidrolisis pati menjadi glukosa. Dalam proses ini digunakan rasio *Aspergillus niger* dengan tepung kulit kentang sebesar 1,25 g : 100 g. pH optimum dapat diketahui dengan jumlah glukosa terbanyak yang dihasilkan pada berbagai variasi pH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH optimum diperoleh pada pH 5. Hal ini sesuai dengan data penelitian yang menyatakan bahwa enzim amilase dari kapang (*Aspergillus niger*) memiliki pH optimum antara 4-5 (Ibrahim, 2010), sehingga pada pH 5 dengan jumlah *Aspergillus niger* sebanyak 50 mL (1,25 g berat keringnya) dapat

menghasilkan jumlah glukosa optimum yaitu 0,018 g dari 100 g tepung kulit kentang. Tetapi pada pH diatas dan dibawah pH optimumnya, jumlah glukosa yang dihasilkan mengalami penurunan. Kondisi ini diduga karena pada pH tersebut aktivitas katalitik amilase menurun (Sukandar, 2002). Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hidrolisis 100 gram kulit kentang menjadi optimal pada pH 5 dengan jumlah glukosa yang dihasilkan sebanyak 0,018 g. Penentuan suhu optimum dalam proses ini dilakukan dengan menggunakan rasio antara *Aspergillus niger* dengan tepung kulit kentang sebesar 1,25 g : 100 g dapat menghasilkan jumlah glukosa optimum sebanyak 0,022 g pada suhu 100°C. Gambar 5 menunjukkan bahwa pada suhu 30°C enzim amilase dari *Aspergillus niger* dapat bekerja secara optimal untuk menghidrolisis amilum menjadi glukosa. Tetapi pada suhu diatas suhu optimumnya yaitu pada suhu 40°C, terjadi penurunan jumlah glukosa yang terbentuk. Penurunan jumlah glukosa ini disebabkan pada suhu 40°C enzim amilase dari *Aspergillus niger* telah mengalami denaturasi sehingga enzim kehilangan aktivitas katalitiknya, hal ini menyebabkan enzim tidak mampu menghidrolisis amilum menjadi glukosa. Dengan demikian suhu optimum yang digunakan untuk menghidrolisis tepung kulit kentang menjadi glukosa diperoleh pada suhu 30°C. Jumlah glukosa yang dihasilkan pada kondisi optimum dari tiga kali pengulangan sebesar  $0,0167 \text{ g} \pm 0,0061$ .

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan penelitian ini adalah kondisi optimum untuk menghidrolisis 100 g tepung kulit kentang adalah dengan

penambahan 1,25 g *Aspergillus niger* (berat kering) atau setara dengan 50 mL biakan, pH 5 serta suhu 30°C selama 2 jam dengan glukosa yang dihasilkan sebesar 0,0167 g.

### UCAPA TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dengan caranya masing – masing dalam melengkapi tulisan ini

### DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanto, M. 2009. *Optimasi Sakarifikasi pada Pembuatan Bioetanol pada Ubi Jalar Putih dan Penentuan Rendemen Bioetanol dari Ubi Jalar Putih dan Ubi Jalar Kuning*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Darkuni, M. Noviar. 2001. *Mikrobiologi (Bakteriologi, Virologi dan mikologi)*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Dewi, F. F. 2009. *Optimasi Perbandingan Aspergillus niger dan Saccharomyces cerevisiae srta Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dari Ubi Jalar Putih (Ipomoea Batatas L) dengan Teknik Sakarifikasi Fermentasi Simultan*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Fardiaz. 1996. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Iqbal,J. dan Ali, S. 2002. *Production of Citric Acid by Aspergillus niger Using CaneMolassesin a Stirred Fermentor*. ElectronicJournal of Biotechnology Vol 5 No 3.
- Judoamidjoyo, M. Darwis, A dan Sa'id, E. G. 1990. *Teknologi fermentasi*. Bogor: PAU-Bioteknologi IPB.
- Komang, Hermin. 2004. *Evaluasi Daya Hidrolitik Enzim Glukoamilase dari Filtrat Kultur Aspergillus niger*. Kendari : Jurusan Kimia FMIPA UNHALU
- Kusmiyati dan Shitophyta, L. M. 2014. *Produksi bioetanol dari bahan baku singkong, jagung dan iles-iles: pengaruh suhu fermentasi dan berat yeast saccharomyces cerevisiae*. Reaktor, 15(2), 97-103
- Lehninger, A. 2009. *Dasar-dasar Biokimia Jilid2*. Jakarta : Erlangga
- Media Komunikasi Cabang Malang. 2007. *Aspergillus niger*. (online). (<http://permimalang.wordpress.com/2007/12/12/aspergillus-niger>, diakses 4 April 2010)
- Poedjiadi, A. dan Supriyanti, T. 2006. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI
- Pretis, Steve.1990. *Bioteknologi* (Diterjemahkan oleh Megy Thenawidjaya). Jakarta: Erlangga
- Prescott, S. C. and Dunn, GG.1959. *Industrial Microbiology*. New York:Mc Graw-Hill Book Company Inc.
- Purwadi, R. Amanta, C. dan Lan, N. L. 2009. *Pengaruh Nisbah C/N dan Laju Aerasi Terhadap ProduksiEnzim Amilase Menggunakan Aspergillus niger*. (online). (<http://www.google.co.id/search> nisbah+C%2FN+dan+laju+aerasi&oq=nisbah+C%2FN+dan+laju+aerasi , diakses 6 juni 2011)
- Retno,E. Enny, K. A. dan Fadilah. 2009. *Studi Awal Reaksi Simultan Sakarifikasi Dan Fermentasi Tepung Sorghum (Sorghum Bicolor L. Moench) dengan Katalis Enzim Glucoamylase dan yeast (saccharomyces cereviseae)* ( online



- ). (<http://www.pdfqueen.com/html>, diakses 28 Maret 2010 )
- Sa'id, E.G.1990. *Teknologi Fermentasi*. Jakarta: CV Rajawali.
- Sudarmaji, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: Pusat antar Universitas UGM Yogyakarta
- Suhardi, W. 2010. *Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Sistem Selulase dari Bacillus circulans Strain Lokal*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Suwono, H. 2001. *Petunjuk Praktikum Biokimia*. Malang: Jurusan Biologi FMIPA UM
- Tadeu, Gener. 2006. *Solubiliza Of  $CaHPO_4$  and  $AlPO_4$  by Aspergillus niger Cultured Media With Different Carbon and Nitrogen Sources*. Brazil: Jurnal Mikrobiologi
- Tarigan, Jeneng. 1988. *Pengantar Mikrobiologi*. Jakarta: Erlangga.
- Wardio, S. P. 1990. *Petunjuk Praktek Kimia Industri*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.